



TITLE:

Synthesis of Riboflavin by Microorganisms(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Takeda, Isao

CITATION:

Takeda, Isao. Synthesis of Riboflavin by Microorganisms. 京都大学,
1960, 農学博士

ISSUE DATE:

1960-06-21

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/210727>

RIGHT:

氏 名	武 田 勳 たけ だ いさお
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 1 5 号
学位授与の日付	昭 和 35 年 6 月 21 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Synthesis of Riboflavin by Microorganisms (微生物によるリボフラビンの合成について) (主 査)
論 文 調 査 委 員	教 授 片 桐 英 郎 教 授 中 島 稔 教 授 満 田 久 輝

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は微生物ことに醗酵菌類の菌体およびそれから調製した酵素標品によるリボフラビンの生合成を取り扱ったもので4章からなっている。

第1章ではアセトン・ブタノール醗酵細菌 (*Clostridium acetobutylicum*) が人工培地においてリボフラビンを合成する際の醗酵液にみいだされる各種の物質とリボフラビンとの関係を生育試験による結果から論議している。たとえばリボフラビンの合成に必須なアミノ酸アスパラギンおよびアルギニンの効果について、前者はリボフラビンの生合成を促進する直接的な作用を呈するが、後者の作用は間接的であって単に細菌の生育を増進する効果にすぎないことを明らかにしている。

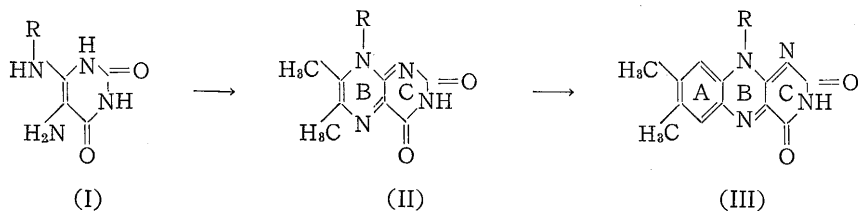
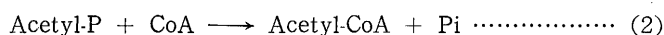
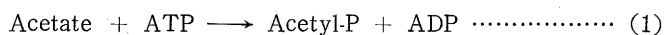
第2章では *Cl. acetobutylicum*, *Eremothecium ashbyii* および *Aerobacter aerogenes* から調製した無細胞抽出液による実験結果から、醗酵液にみいだされるアデニン、アデニル酸、グアニル酸をはじめ多種の核酸系物質は従来の所見と異なって、いずれもフラビン生合成に無関係であることを指摘している。

ついで *Cl. acetobutylicum* の醗酵液から G_1 および G_2 と仮称している3種の緑色蛍光物質を分離し、これらの物質からリボフラビンの生合成が *Cl. acetobutylicum* の生育試験ならびに新鮮菌体で行なわれることを発見した。これらの物質中最も安定であるG物質について検討を重ね、このものの醗酵液中における生成量はリボフラビンのそれと平行的であり、またリボフラビンの生成を停止する阻害物質たとえば $FeSO_4$ を添加した培地ではG物質の生成も起こらないことからG物質がリボフラビンの前駆物質であることを推論したばかりでなく、G物質は既に *Er. ashbyii* の菌体から分離確認された 8-N-Ribityl-6, 7-dimethylumazine (II) であることを同定している。

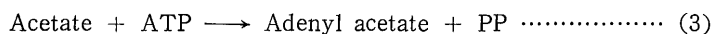
第3章では *Cl. acetobutylicum* によるルマジン(II)からリボフラビン(III)への生合成は当該細菌からの酵素標品によって行なわれることを証明し、ついでこの酵素は *Escherichia coli*, *Er. ashbyii*, *Neurospora crassa*, *A. aerogenes*, パン酵母ならびに牛の肝臓など自然界に広く分布していることを指摘している。

さらにこれらの酵素標品の性状を詳細に研究して、その助酵素は ATP (Adenosine triphosphate), CoA

(Coenzyme A) および DPNH (還元型 Diphosphopyridine nucleotide) であること、一方炭素 4 原子を供給する 4C-Donor としてアセトアルデヒドおよびピルビン酸も有効であるが、酢酸が直接的な Donor であることを指摘し、ついで *Cl. acetobutylicum* および *E. coli* の場合には (1) および (2) の反応で生じた 2 分子のアセチル基が (II) の 2 個のメチル基を閉環して A 環を生じ (III) の合成が行なわれると結論している。



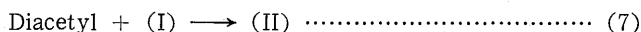
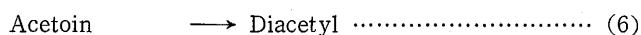
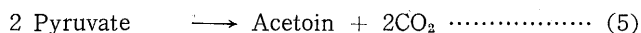
しかし *Er. ashbyii* の場合は反応の途中に ADP の代りに AMP の生成をみることから上記の (1) および (2) の代りに (3) および (4) の反応を起すことを推論している。



なおこの合成酵素系は (II) の側鎖 (R) に対して顕著な特異性を示し、上述の Dimethyl-ribolumazine (R=ribose) にはきわめてよく反応するが、Dimethylillumazine (R=H) および Dimethyl-methylillumazine (R=CH₃) には全く作用せず、Dimethyl-hydroxyethylillumazine (R=CH₂·CH₂OH) にかかなりよく作用することを明らかにしている。

第 4 章では *A. aerogenes* および *Er. ashbyii* からの酵素標品がピルビン酸の存在において、4-Ribitylamino-5-aminouracil (R=ribose) (I) および 4-β-Hydroxyethylamino-5-aminouracil (R=CH₂·CH₂OH) からそれぞれ該当するルマジンを生ずる B 環合成反応 [(I) → (II)] を起こすことを発見し、かつこの場合には A 環合成反応 [(II) → (III)] のような基質特異性を示さず 4,5-Diaminouracil (R=H) にもよく作用することを指摘している。

ついで B 環合成反応を検討して、それはそれぞれ別箇の酵素系による (5) および (6) の反応で生じたジアセチルが主として非酵素的に (I) と反応する (7) 式によることを推論している。



論文審査の結果の要旨

本論文はアセトン・ブタノール醗酵細菌の醗酵液から 3 種の緑色蛍光物質 G, G₁ および G₂ を分離し、このうち G 物質は 8-N-Ribityl-6,7-dimethylillumazine (II) であることを同定し、かつこれらの物質は

いずれもリボフラビンの前駆物質にあたることを当該細菌の新鮮菌体ならびに生育試験によって証明した。

ついでルマジン (II) からリボフラビン (III) への生合成を起こす酵素を発見し、それを当該細菌から分離したばかりでなく、この酵素が多種の醗酵菌類ならびに牛の肝臓など広く自然界に所在することをみいだした。

当該酵素の助酵素は ATP, CoA および DPNH からなること、また 4 C-Donor に関する研究から (II) → (III) の反応は酢酸から生じた 2 分子の Acetyl-CoA が (II) の 2 個のメチル基を閉環して A 環を生ずる酵素作用に基くことを発見した。さらに *Aerobacter aerogenes* などの微生物についてウラシル (I) からルマジン (II) を合成する B 環合成酵素標品をこれまた初めて調製し、(I) → (II) の反応は (II) → (III) の反応と全く異なった酵素系によること、すなわちピルビン酸から酵素作用で生ずるジアセチルが主として非酵素的に (I) と反応するものであることを指摘するなど、重要な生体成分であるリボフラビンの生合成機構の解明に幾多の新知見を加えたものであって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

〔主 論 文 公 表 誌〕

第 1 章 Journal Vitaminol, Vol.4 (1958), No.2

第 2 章 Journal Vitaminol, Vol.4 (1958), No.3

第 3 章 Journal Vitaminol, Vol.4 (1958), No.4

第 4 章 Journal Vitaminol, Vol.5 (1959), No.2

Journal Vitaminol, Vol.5 (1959), No.4

〔参 考 論 文〕

な し